

УДК 594.381:591.113

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БЕЛКОВОГО СПЕКТРА ГЕМОЛИМФЫ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ГРУППЫ *LYMNAEA* LAMARK, 1799 (GASTROPODA, PULMONATA)

А. П. Стадниченко

(Астраханский технический институт рыбной промышленности и хозяйства)

Диагностировать виды группы *Lymnaea* Lamark, 1799, и прежде всего таксоны подрода *Radix*, в некоторых случаях очень сложно. С большими трудностями связана дифференцировка прудовиков ушкового (*Lymnaea auricularia* L.) и вытянутого (*L. peregra* Müll.). Особенно это касается определения видовой принадлежности молодых особей. Одни конхологические признаки *L. auricularia* и *L. peregra* в силу высокой степени их вариабельности не могут служить критерием установления видовой принадлежности моллюсков. К числу менее изменчивых признаков относятся анатомические особенности некоторых органов генеративной системы лимнеид: простаты, сперматеки, мешка пениса и препуциума,— подробно изученные у видов подрода *Radix* (Hubendick, 1951; Jackiewicz, 1954).

Для диагностики видов в последнее время наряду с изучением особенностей внешней морфологии и анатомии моллюсков все чаще используются определенные биохимические тесты, в т. ч. белковый спектр их гемолимфы. Электрофоретическому исследованию белков гемолимфы и тканей моллюсков посвящено небольшое количество работ (Baba, 1956; Wright, Ross, 1959, 1963, 1965, 1966; Tran, Rose, 1962; Targett, 1963; Osteux, Rose, Tran, 1966; Davis, Lindsay, 1967; Стадниченко, 1969, 1969а, 1970, 1970а, 1970б; Логвиненко, Кодолова, 1971). В четырех из них выясняется вопрос, может ли электрофоретическая картина белков служить бесспорным критерием для установления видовой принадлежности моллюсков. Райт и Росс (Wright, Ross, 1963) методом электрофореза на ацетате целлюлозы исследовали белки яиц некоторых видов рода *Bulinus* (семейство Planorbidae), которого нет в нашей фауне, и установили, что их состав является весьма стабильным признаком и его можно использовать для диагностики видов этого рода. Дальнейшими исследованиями было показано, что метод иммуноэлектрофореза антигенной структуры моллюсков позволяет установить различия на родовом и видовом уровнях, а электрофорез на акриламидном геле дает возможность дифференцировать виды одного рода (Tran, Rose, 1962; Osteux, Rose, Tran, 1966; Логвиненко, Кодолова, 1971).

Мы изучали белковый спектр гемолимфы у голарктических и палеоарктических видов моллюсков из группы *Lymnaea*, широко распространенных в континентальных водоемах СССР, и попытались установить, можно ли использовать этот показатель в качестве биохимического теста для диагностики видов в спорных случаях.

Материал и методика

Объектом исследования являлись прудовики озерный — *I. stagnalis* (L., 1758), ушковый (*L. auricularia*) и вытянутый (*L. peregra*) из водоемов западноукраинской Лесостепи (в пределах Львовской обл.). Сра-

внивали белковый спектр гемолимфы у взрослых особей. Высота раковины у исследованных нами *L. stagnalis* варьировала от 34 до 44, у *L. auricularia* — от 20 до 28 и у *L. peregra* — от 12 до 16 мм.

Гемолимфу получали по методике Таргетта (Targett, 1962) или по собственной методике (Стадниченко, 1969а) непосредственно перед исследованием (если анализ делали на следующий день, гемолимфу сохраняли в холодильнике при температуре не выше $+2^{\circ}\text{C}$). На первом этапе работы перед нанесением на пластинку гемолимфу центрифугировали в течение 10—15 мин. (скорость центрифуги 3000 об/мин). В дальнейшем мы убедились в том, что при электрофоретическом исследовании плазмы и цельной гемолимфы получают одинаковые форегаммы, что вполне закономерно, т. к. клеточные элементы (амебоциты) в гемолимфе моллюсков весьма немногочисленны (George, Ferguson, 1950): составляют всего 1—2% ее объема. В связи с этим естественно предположить, что сколько-нибудь существенно исказить электрофоретическую картину гемолимфы они не могут.

Белки разделяли на фракции методом электрофореза в агаровом геле (Илков, Николов, 1959). Электрофорегаммы изучали на микрофотометре МФ-2 (Сухомлинов, Едкина, Яковенко, 1962). Полученные цифровые данные обрабатывали методом вариационной статистики (Деркач, 1963).

Учитывая методические указания В. И. Здуна (1961), после взятия гемолимфы животных обязательно обследовали на зараженность парентитами и личинками (метацеркариями) трематод. В настоящей работе приведены результаты сравнения электрофоретического спектра гемолимфы только свободных от инвазии моллюсков.

Результаты исследований

У всех исследованных видов белки гемолимфы разделялись на пять четко выраженных фракций (табл. 1). Идентифицировать их с белками сыворотки крови человека оказалось невозможно, поэтому мы обозначили белковые фракции римскими цифрами (I—V). У обследованных нами видов в отрицательном электрическом поле выявлены две белковые фракции: более подвижная (I) и менее подвижная (II). В положительном электрическом поле зарегистрированы три фракции: самая подвижная (V), менее подвижная (IV) и наименее подвижная (III). В степени подвижности отдельных белковых фракций гемолимфы у *L. stagnalis*, *L. auricularia* и *L. peregra* статистически достоверные различия не отмечены.

У изученных видов процентное содержание белковых фракций анодной зоны превышало таковое фракций катодной зоны (61,49 и 38,51; 74,04 и 25,96; 70,5 и 29,49% соответственно для *L. stagnalis*, *L. auricularia* и *L. peregra*). У всех обследованных видов удельный вес I фракции в 1,5—2,0 раза больше такового II фракции (электроотрицательные фракции). Удельный вес III фракции в 2—3 раза превосходит удельный вес IV и V фракций, вместе взятых (электроположительные фракции).

У исследованных видов в белковом спектре гемолимфы обнаружены и существенные различия. Мы попарно сравнили процентное содержание отдельных белковых фракций (табл. 2). У *L. stagnalis* и *L. peregra* обнаружены статистически достоверные различия в содержании I, II, III и V фракций. У *L. stagnalis* и *L. auricularia*, а также у *L. peregra* и *L. auricularie* различия выявлены в содержании I и III, а также III и IV белковых фракций (соответственно для названных пар видов).

Таблица 1

Процентное соотношение белковых фракций гемолимфы у моллюсков группы *Lymnaea*

Белковая фракция	$M \pm m$	min—max	σ	C
<i>L. stagnalis</i>				
I	$35,35 \pm 1,31$	31,85—43,68	3,94	11,15
II	$26,14 \pm 1,24$	19,25—31,11	3,72	14,25
III	$28,56 \pm 1,83$	16,19—34,39	5,48	19,28
IV	$7,93 \pm 1,51$	3,97—19,05	4,52	56,90
V	$2,04 \pm 0,63$	0,59—6,66	1,89	92,65
<i>L. auricularia</i>				
I	$47,01 \pm 2,97$	64,15—36,17	8,42	17,91
II	$27,03 \pm 0,39$	13,20—46,80	1,11	4,11
III	$12,34 \pm 0,81$	9,09—15,56	2,28	18,47
IV	$8,95 \pm 0,74$	4,68—12,12	2,11	23,58
V	$2,17 \pm 0,24$	1,53—2,63	0,71	32,71
<i>L. peregra</i>				
I	$47,32 \pm 1,93$	36,11—56,86	5,79	12,24
II	$23,19 \pm 1,11$	18,62—28,70	3,33	14,35
III	$12,02 \pm 1,18$	10,78—19,18	3,36	27,96
IV	$8,89 \pm 1,18$	8,76—14,00	3,36	37,79
V	$5,76 \pm 0,95$	1,92—11,39	2,69	47,44

Таблица 2

Результаты биометрического сравнения процентного содержания белковых фракций гемолимфы у моллюсков группы *Lymnaea*

Моллюск	Белковая фракция				
	I	II	III	IV	V
<i>L. stagnalis</i>	3,59*	0,6	8,11	0,6	1,9
<i>L. auricularia</i>	99,10	43,3	99,90	43,3	90,1
<i>L. stagnalis</i>	5,7	2,4	7,6	0,5	3,2
<i>L. peregra</i>	99,9	95,3	99,9	36,8	98,5
<i>L. auricularia</i>	0,09	0,09	3,3	0,05	3,6
<i>L. peregra</i>	7,7	7,7	98,7	7,7	99,1

* В числителе — показатель Стьюдента, в знаменателе — степень достоверности различий.

Проведенные исследования свидетельствуют о наличии значительных различий в белковом спектре гемолимфы у различных видов группы *Lymnaea*. Однако утверждать, что метод электрофореза в агаровом геле позволяет устанавливать различия на видовом уровне, на наш взгляд, преждевременно. Поэтому полученные данные мы рассматриваем как предварительные. Необходимо повторить исследования на большем материале, добытом из водоемов с различных континентов.

ЛИТЕРАТУРА

- Деркач М. П. 1963. Елементи статистичної обробки результатів біологічного експерименту. Львів.
- Здун В. И. 1961. Обследование моллюсков на зараженность личинками трематод. В сб.: «Методика изучения паразитологической ситуации и борьба с паразитами сельскохозяйственных животных».
- Илков А., Николов Т. 1959. Электрофорез растворимых белков в агаровом геле. Вopr. мед. химии, № 5.
- Логвиненко Б. М., Кодолова О. П. 1971. О возможности дифференцирования моллюсков путем сравнения электрофореграмм миогенов. В сб.: «Моллюски. Пути, методы и итоги их изучения», в. 4. Л.
- Стадниченко А. П. 1969. Изменчивость белкового спектра крови *Lymnaea stagnalis* (L., 1758) как результат инвазии личинками трематод. В сб.: «Вопросы паразитологии» (Тр. VI науч. конф. паразитологов УССР). К.
- Ее же. 1969а. Половой лиморфизм аминокислотного состава растворимых белков крови озерной живородки. Науч. докл. конф. Астрыбьтуза, т. 2. Астрахань.
- Ее же. 1970. О возрастной изменчивости белкового состава крови *Lymnaea stagnalis* (L., 1758) (Gastropoda Pulmonata). Гидробиол. журн., т. VI, № 2.
- Ее же. 1970а. О половой изменчивости белкового состава крови у *Viviparus conctectus* (Gastropoda, Prosobranchia). Зоол. журн., т. XXXIX, в. 3.
- Ее же. 1970б. Изменение белкового спектра крови *Viviparus conctectus* (Millet, 1813) (Gastropoda, Prosobranchia) при инвазии личиночными формами трематод. Паразитология, т. 4, в. 5.
- Сухомлинов Б. Ф., Едкина В. Д., Яковенко А. Н. 1962. Электрофоретическая характеристика белков сыворотки крови и печени при воздействии ионизирующей радиации. В сб.: «Биологическое действие радиации». Львов.
- Baba H. 1956. Study of mollusc's proteins. Bull. Japan. Sci. Fish., v. 22, № 7.
- Davis G. M., Lindsay G. K. 1967. Disc electrophoresis analysis of molluscan individuals and populations. Malacologia, v. 5, № 2.
- George W. C., Ferguson I. H. 1950. The blood of gastropod molluscs. J. Morphol., v. 86.
- Huberdick B. 1951. Recent Lymnaeidae, their varuation, morphology, taxonomy, nomenclature and distribution. Kungl. Sbenska Vetenscap. Handlingar, Fjarde serien, Bd. 3, № 1. Stocholm.
- Jackiewicz M. 1954. Z badan anatomiczno-porownawczych nad nectorymi gatunkami z rodzaju *Radix* Montfort na terenie Wielkopolski. Prace Kom. Biolog., t. 15, № 3. Poznan.
- Osteux F., Rose G., Tran V. P. K. 1966. Application des techniques d'immuno-electrophoresis on agarose et electrophoresis en gel d'acrylamide a l'etude des mollusques (Planorbidae). Bull. Soc. Zool. France, t. 91, № 3.
- Targett G. A. T. 1962. Absorption spectra of blood from intermediate and nonintermediate hosts of Schistosomes. J. Helminth., v. 43, № 2.
- Idem. 1963. Electrophoresis of blood from intermediate and nonintermediate snail hosts of Schistosomes. Exptl. parasitol., v. 14, № 2.
- Tran V. R. K., Rose F. 1962. Immuno-electrophoresis of antigen structure of molluscs to use it for solution of some moot points of taxonomy. Acad. Sci., v. 255, № 2.
- Wright C. A., Ross G. S. 1959. Electrophoresis of snail blood. Transact. Royale Trop. Med., v. 53.
- Idem. 1963. Electrophoretic studies of blood and egg proteins in *Australorbis glabratus* (Planorbidae). Ann. Trop. Medic. and Parasitol., v. 57, № 1.
- Idem. 1965. Electrophoresis of egg's proteins of some Planorbidae. Бюлл. ВОЗ, т. 32, № 5.
- Idem. 1966. Electrophoresis of egg's proteins of snails *Bulinus africanus* and *B. forscalii*, Там же, т. 35, № 5.

Поступила 15.IX. 1971 г.

**COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF PROTEIN SPECTRUM OF HAEMOLYMPH
OF CERTAIN SPECIES FROM GROUP *LYMNAEA* LAMARK, 1799
(GASTROPODA, PULMONATA)**

A. P. Stadnichenko

(Technological Institute of Fish Industry and Fishery, Astrakhan)

S u m m a r y

Protein spectrum of haemolymph in *Lymnaea stagnalis*, *L. auricularia* and *L. peregra* was studied by means of electrophoresis in agar gel. Statistically trustworthy differences in percentage content of certain protein fractions were established between *L. stagnalis* and *L. auricularia*, *L. stagnalis* and *L. peregra*, as well as between *L. auricularia* and *L. peregra*.